

• 化学成分 •

山东产忍冬藤中 1 个新有机酸化合物

贾献慧¹, 唐文照¹, 闫慧娇², 李 佳³, 张永清^{3*}

1. 山东省医学科学院药物研究所 山东省罕见病重点实验室, 山东 济南 250062

2. 山东省分析测试中心, 山东 济南 250014

3. 山东中医药大学, 山东 济南 250355

摘要:目的 对山东产忍冬藤 *Lonicerae Japonicae Caulis* 进行化学成分研究。方法 通过反复硅胶、MCI-gel 树脂、Sephadex LH-20 等多种柱色谱技术进行化学成分分离纯化, 依据化合物理化性质和波谱学数据鉴定其结构。结果 从山东产忍冬藤中分离并鉴定了 4 个化合物, 分别为 11,14,15-三羟基-12-烯-十八碳酸甲酯(1)、金莲木黄酮(2)、 β -胡萝卜素(3)、马钱素(4)。结论 化合物 1 为一个新化合物, 命名为忍冬酸酯, 化合物 2 为首次从忍冬藤中分离得到。

关键词: 忍冬藤; 忍冬酸酯; 金莲木黄酮; β -胡萝卜素; 马钱素**中图分类号:** R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)21-3766-03**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.21.002A new organic acid from *Lonicerae Japonicae Caulis* produced in ShandongJIA Xian-hui¹, TANG Wen-zhao¹, YAN Hui-jiao², LI Jia³, ZHANG Yong-qing³

1. Key Laboratory for Rare Disease of Shandong Province, Institute of Materia Medica, Shandong Academy of Medical Science, Jinan 250062, China

2. Shandong Analysis and Test Center, Jinan 250014, China

3. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents of *Lonicerae Japonicae Caulis* produced in Shandong Province. **Methods** Compounds were isolated and purified by repeated column chromatographies including silica gel, MCI-gel resin, Sephadex LH-20, and so on. Their structures were elucidated by spectral data, including extensive 1D and 2D NMR techniques. **Results** Four compounds were obtained and identified as 11,14,15-trihydroxy-12-octadecenoic acid methyl ester (1), ochnaflavone (2), β -daucosterol (3), and loganin (4). **Conclusion** Compound 1 is a new organic acid named as loniceric acid ester, and compound 2 is isolated from *Lonicerae Japonicae Caulis* for the first time.

Key words: *Lonicerae Japonicae Caulis*; loniceric acid ester; ochnaflavone; β -daucosterol; loganin

忍冬藤 *Lonicerae Japonicae Caulis* 为忍冬科 (Caprifoliaceae) 植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥茎枝^[1], 为临床常用中药, 具有清热解毒、疏风通络的功效。忍冬藤的化学成分^[2]主要包括有机酸、三萜、环烯醚萜、黄酮、挥发油等。研究发现忍冬藤与金银花具有相近的药理活性^[2-3], 能解热、抗炎、抗病毒、抗肿瘤、调节机体免疫等, 药材资源较金银花更为丰富, 但不如金银花开发利用

广泛。为进一步开发利用山东的忍冬藤药材资源, 本实验对山东产忍冬藤抗氧化活性较强的醋酸乙酯部位进行了系统的化学成分分离, 从中分离得到 4 个化合物, 分别为 11,14,15-三羟基-12-烯-十八碳酸甲酯 (11,14,15-trihydroxy-12-octadecenoic acid methyl ester, 1)、金莲木黄酮 (ochnaflavone, 2)、 β -胡萝卜素 (β -daucosterol, 3)、马钱素 (loganin, 4)。其中化合物 1 为 1 个新的有机酸化合物, 命名

收稿日期: 2016-05-01

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划课题资助项目 (2011BAI06B01); 山东省医学科学院科技计划项目 (2015-23)

作者简介: 贾献慧 (1977—), 女, 博士, 从事中药新药与质量研究。E-mail: imjxh@163.com

*通信作者 张永清 (1962—), 男, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为中药资源及其质量控制研究。E-mail: zyzq622003@126.com

为忍冬酸酯。化合物 **2** 为首次从忍冬藤中分离得到。

1 仪器与材料

Varian INOVA-600 型核磁共振仪 (Varian 公司, 美国); TrapVL 型质谱仪 (Agilent 公司, 美国); 1100 series 高效液相分析仪 (Agilent 公司, 美国); NEXUS 670 FT-IR 型红外光谱仪 (Thermo Nicolet 公司, 美国); U-3000 型紫外-可见分光光度计 (Hitachi 公司, 日本)。柱色谱用硅胶 (200~300 目, 300~400 目)、G₂₅₄ 硅胶薄层色谱板 (青岛海洋化工厂), Sephadex LH-20 (Amersham Biosciences 公司, 瑞典)。

分析纯 95%乙醇 (德州恒业化工有限公司); 分析纯石油醚、醋酸乙酯、正丁醇、二氯甲烷、甲醇 (天津市化学试剂厂); 分析纯无水硫酸钠 (天津光复科技发展有限公司); 分析纯冰醋酸 (天津富宇精细化工有限公司); 色谱纯甲醇 (山东禹王试剂有限公司)。

忍冬藤采自山东双花制药公司金银花规范化种植基地, 经山东中医药大学张永清教授鉴定为忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥茎枝。

2 分离与纯化

取忍冬藤醋酸乙酯萃取物 (391 g), 加适量醋酸乙酯溶解后上硅胶柱色谱, 以三氯甲烷-甲醇 (100:0→1:1) 梯度洗脱, 以硅胶薄层色谱合并相同组分, 得到 10 个部分 Fr. 1~10。Fr. 8 经硅胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇)、MCI 树脂、Sephadex LH-20 等柱色谱分离, TLC 跟踪监测, 结合重结晶等分离得到化合物 **1** (8 mg)、**2** (5 mg)、**3** (1 g)。Fr. 9 经硅胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇) 及制备型高效液相色谱等分离, 得到化合物 **4** (300 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末, UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 210.80,

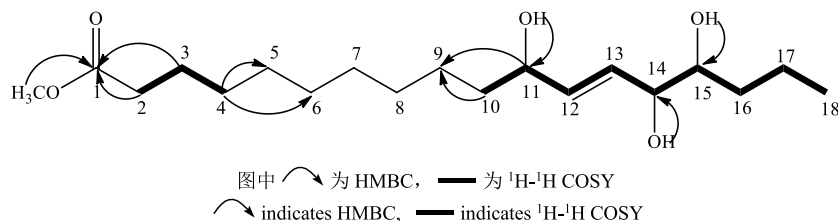
230.06 (sh), 268.40 (弱); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 545, 3 354, 2 934, 2 850, 1 730, 1 464, 1 439; HR-ESI-MS: m/z 383.220 0 [M+K]⁺ (计算值 383.219 4), ESI-MS: m/z 345 [M+H]⁺; ¹H- 和 ¹³C-NMR 数据见表 1。

HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z 383.220 0 [M+K]⁺, ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z 345 [M+H]⁺, 说明相对分子质量为 344, 结合 ¹H- 和 ¹³C-NMR 谱, 可确定其分子式为 C₁₉H₃₆O₅。IR 显示出结构中羟基 (3 545 cm⁻¹)、双键 (3 354, 1 464, 1 439 cm⁻¹) 与羰基 (1 730 cm⁻¹) 的存在。在 ¹H-NMR 谱 (表 1) 中, δ 3.57 (3H, s) 为 1 个甲氧基的质子信号, δ 5.55 (1H, brs) 与 5.56 (1H, brs) 是 2 个双键的质子信号, δ 4.34 (1H, d, J = 6.0 Hz), 4.55 (1H, d, J = 6.0 Hz), 4.60 (1H, d, J = 6.0 Hz) 的 3 个信号在 HMQC 中没有碳信号与它们相关, 推测它们分别为 3 个羟基的质子信号 (OH-11, 14, 15), 其余的为脂肪碳上的质子信号, 尤其是 δ 1.50~1.14 是 18 个氢信号的堆积, δ 0.90 (3H, s) 为 1 个甲基的质子信号, 这显示了长链脂肪烷的特征。化合物 **1** 的 ¹³C-NMR 给出 19 个碳信号, 其中 δ 173.80 (C-1) 为羰基碳信号, δ 135.08 (C-12) 与 129.94 (C-13) 是 2 个双键碳信号, δ 70.96 (C-11), 74.18 (C-15), 74.74 (C-14) 为 3 个连氧碳信号, δ 51.61 为甲氧基的碳信号, δ 14.42 为甲基的碳信号, 其余的都为脂肪烷链中-CH₂-的碳信号。以上波谱学信息说明化合物 **1** 是含有 1 个双键且有 3 个羟基取代的十八碳酸甲酯。利用 HMQC 对每个碳氢信号进行了准确的归属, 见表 1。

在 ¹H-¹H COSY 谱中, -CH₂-CH(OH)-CH=CH-CH(OH)-CH(OH)-CH₂-CH₂-CH₃ (片段 1, 图 1) 与 -CH₂-CH₂-CH₂- (片段 2, 图 1) 2 个结构片段的存在很容易由它们之间的相关信号得到证明。C₅~C₉

表 1 化合物 **1** 的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据 (400/100 MHz, DMSO-*d*₆)
Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR data of compound **1** (400/100 MHz, DMSO-*d*₆)

碳位	δ_{C}	δ_{H}	碳位	δ_{C}	δ_{H}
1	173.80		12	135.08	5.55 (1H, m)
2	32.33	1.38 (1H, m), 1.13 (1H, m)	13	129.94	5.56 (1H, m)
3	25.37	1.23 (2H, m)	14	74.74	3.77 (1H, brs)
4	25.65	1.40 (1H, m), 1.23 (1H, m)	15	74.18	3.23 (1H, m)
5	28.91	1.23 (2H, m)	16	33.73	2.28 (2H, t, J = 4.0 Hz)
6	29.25	1.23 (2H, m)	17	22.59	1.25 (2H, m)
7	29.44	1.23 (2H, m)	18	14.42	0.85 (3H, t, J = 4.0 Hz)
8	32.01	1.23 (2H, m)	-OCH ₃	51.61	3.57 (3H, s)
9	24.91	1.23 (2H, m)	OH-11		4.55 (1H, d, J = 4.0 Hz)
10	37.88	1.36 (2H, m)	OH-14		4.60 (1H, d, J = 4.0 Hz)
11	70.96	3.89 (1H, brs)	OH-15		4.34 (1H, d, J = 4.0 Hz)

图1 化合物1主要的 HMBC 与 ^1H - ^1H COSYFig. 1 Key HMBC and ^1H - ^1H COSY correlations of compound 1

上的 10 个质子信号都堆积在 δ 1.23 处, 推测这 5 个 CH_2 相互相连, 组成 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ (片段 3, 图 1)。在 HMBC 谱中, 3 个羟基质子信号 δ_{H} 4.34, 4.55, 4.60 分别与 δ_{C} 74.18, 70.96, 74.74 相关, 甲氧基信号 δ_{H} 3.57 与 δ_{C} 173.80 的羰基信号有远程相关, 说明了它们的取代位置。 δ_{H} 1.38, 1.13 (H_2 -2)、 δ_{H} 1.23 (H_2 -3) 与 δ_{C} 173.80 的羰基信号有远程相关, 说明酯羰基与片段 2 相连, H_2 -4 中的 1 个质子信号 δ_{H} 1.40 分别与 δ_{C} 28.91 (C-5) 和 δ 29.25 (C-6) 有远程相关, 说明片段 2 与片段 3 相连。 H_2 -10 的质子信号 δ_{H} 1.36 与 δ_{H} 1.23 的质子信号有 ^1H - ^1H COSY 相关, 并且 δ_{H} 1.36 (H_2 -10)、 δ_{H} 3.89 (H-11) 都与 δ_{C} 24.91 (C-9) 具有 HMBC 相关信号, 说明片段 3 与片段 1 相连。利用 ^1H - ^1H COSY 与 HMBC 技术对化合物 1 结构中的片段进行明确的连接, 由以上波谱数据结合文献报道^[4-6]分析, 可鉴定化合物 1 的结构为 11,14,15-三羟基-12-烯-十八碳酸甲酯, 命名为忍冬酸酯。

化合物 2: 淡黄色轻质粉末, Mg-HCl 反应阳性。ESI-MS: m/z 537.4 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 12.92 (1H, s, 5-OH), 12.89 (1H, s, 5''-OH), 8.05 (2H, brs, H-2''', 6'''), 7.92 (2H, brs, H-2', 6'), 7.18 (1H, brs, H-5'), 7.03 (2H, brs, H-3''', 5'''), 6.89 (2H, brs, H-3, 3''), 6.50 (2H, brs, H-8, 8''), 6.20 (2H, brs, H-6, 6''); ^{13}C -NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 182.2 (C-4''), 182.2 (C-4), 164.8 (C-7''), 164.7 (C-7), 163.5 (C-2''), 163.1 (C-2), 161.9 (C-5), 161.9 (C-4'''), 161.3 (C-5''), 157.8 (C-9''), 157.8 (C-9), 153.8 (C-4'), 142.1 (C-3'), 128.9 (C-2'''), 125.8 (C-6'), 124.9 (C-1'''), 122.8 (C-1'), 121.7 (C-2'), 118.4 (C-5'), 116.6 (C-3'''), 104.5 (C-10''), 104.3 (C-10), 104.2 (C-3''), 104.1 (C-3), 99.4 (C-6''), 99.4 (C-6), 94.4 (C-8''), 94.5 (C-8)。以上数据与文献报道^[7]基本一致, 故鉴定化合物 2 为金莲木黄酮。

化合物 3: 白色粉末。与 β -胡萝卜素对照品共薄层, 经石油醚-醋酸乙酯、氯仿-甲醇、氯仿-丙酮 3 种溶剂系统展开、检测, R_f 值一致, 且显色过程相同, 故鉴定化合物 3 为 β -胡萝卜素。

化合物 4: 白色羽状结晶 (甲醇), $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.36 (1H, s, H-3), 5.13 (1H, d, $J = 4.4$ Hz, H-1), 4.48 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, glucose-H-1'), 3.89 (1H, m, H-7), 3.62 (3H, s, COOCH_3), 3.04 (1H, m, H-5), 2.08 (1H, m, H-6 β), 1.72 (1H, m, H-8), 1.46 (1H, m, H-6 α), 0.99 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, CH_3); ^{13}C -NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 96.5 (C-1), 151.0 (C-3), 112.6 (C-4), 31.2 (C-5), 41.0 (C-6), 73.6 (C-7), 42.2 (C-8), 45.2 (C-9), 13.9 (C-10), 167.4 (C-11), 99.0 (C-1'), 72.6 (C-2'), 77.7 (C-3'), 70.6 (C-4'), 77.2 (C-5'), 61.6 (C-6')。以上波谱数据与文献报道^[8]基本一致, 故鉴定化合物 4 为马钱素。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 鲁思爱. 忍冬藤的化学成分及其药理应用研究进展 [J]. 临沂大学学报, 2012, 34(3): 132-134.
- [3] 庄丽, 张超, 阿里穆斯. 金银花的药理作用与临床应用研究进展 [J]. 辽宁中医杂志, 2013, 40(2): 378-380.
- [4] 李宁, 李锐, 冯志国, 等. 过山蕨中有机酸类化学成分研究 [J]. 中草药, 2007, 38(7): 970-972.
- [5] 袁涛, 华会明, 裴月湖. 三棱的化学成分研究 (I) [J]. 中草药, 2005, 36(11): 1607-1610.
- [6] 张卫东, 肖凯, 杨根全, 等. 中药三棱中的新化合物三棱酸 [J]. 中草药, 1995, 26(8): 125-126.
- [7] 马俊利, 李宁, 李锐. 忍冬叶的化学成分 [J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(11): 868-870.
- [8] 陈军, 马双成. 忍冬藤中马钱素和当药苷提取分离及结构鉴定 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2006, 23(3): 199-200.